

University of Groningen

Agent for preventing and ameliorating aging of skin

Itagaki, Koji; Oba, Tetsuo; Tanimoto, Morimasa; Ota, Yoshiyuki; Doesburg, Klaus ; Jan, Sikkema; Iwasaki, Taisuke

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

1998

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Itagaki, K., Oba, T., Tanimoto, M., Ota, Y., Doesburg, K., Jan, S., & Iwasaki, T. (1998). Agent for preventing and ameliorating aging of skin. (Patent No. *JP10245316*).

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

(19)日本国特許庁（J P）

(12) 公 開 特 許 公 報 （A）

(11)特許出願公開番号

特開平10-245316

(43)公開日 平成10年(1998) 9月14日

(51)Int.Cl.⁶

識別記号

F I

A 6 1 K 7/00

A 6 1 K 7/00

J

W

7/48

7/48

審査請求 未請求 請求項の数4 F D （全 6 頁）

(21)出願番号

特願平9-65319

(22)出願日

平成9年(1997) 3月4日

(71)出願人 000006699

雪印乳業株式会社

北海道札幌市東区苗穂町6丁目1番1号

(72)発明者 板垣 康治

北海道札幌市中央区南11条西18丁目1-27

(72)発明者 大羽 哲郎

北海道札幌市東区北31条東18丁目4-1-405

(72)発明者 谷本 守正

北海道札幌市厚別区厚別北4条3丁目9-5

(74)代理人 弁理士 藤野 清也

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 皮膚老化予防及び改善剤

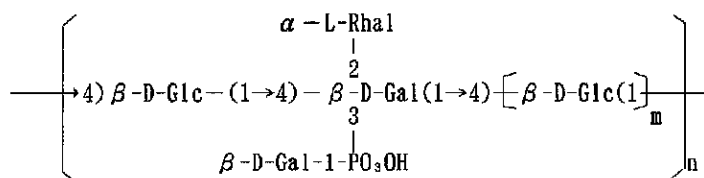
(57)【要約】

【課題】 皮膚の老化を予防し改善する剤の提供。

【解決手段】 リン酸化多糖類を有効成分とする皮膚老化予防及び改善剤。リン酸化多糖類は式(I)又は(II)の

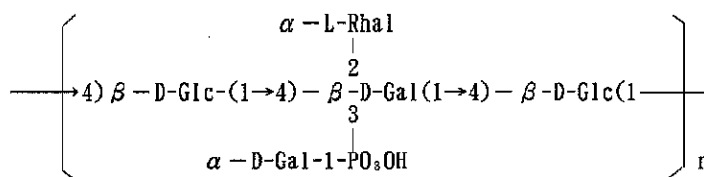
化合物が用いられる。皮膚老化予防改善剤は、化粧水、クリーム等化粧品の形で用いられる。

【化1】



(I)

【化2】



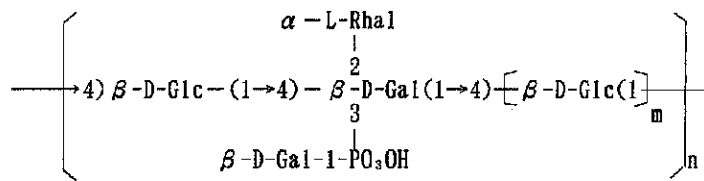
(II)

【特許請求の範囲】

【請求項1】 リン酸化多糖類を有効成分とする皮膚老化予防及び改善剤。

【請求項2】 式(I) で示されるリン酸化多糖類を用いる請求項1に記載の皮膚老化予防及び改善剤。

【化1】



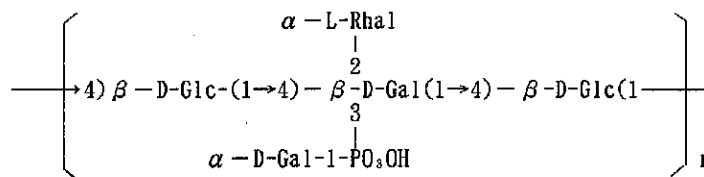
(I)

(但し、式中、Glc はグルコース残基を、Gal はガラクトース残基を、Rha はラムノース残基をそれぞれ示す。また、式中の大きな字で書かれた数字はそれぞれの結合部位を、mは0～3の整数を、nは繰り返しの単位で、

1,000～5,000 をそれぞれ示す。)

【請求項3】 式(II)で示されるリン酸化多糖類を用いる請求項1に記載の皮膚老化予防及び改善剤。

【化2】



(II)

(但し、式中、Glc はグルコース残基を、Gal はガラクトース残基を、Rha はラムノース残基をそれぞれ示す。また、式中の大きな字で書かれた数字はそれぞれの結合部位を、nは繰り返しの単位で、1,000～5,000 をそれぞれ示す。)

【請求項4】 皮膚老化予防及び改善剤が化粧品である請求項1～3のいずれかに記載の皮膚老化予防及び改善剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、リン酸化多糖類を有効成分とする皮膚老化予防及び改善剤に関する。本発明の皮膚老化予防及び改善剤は化粧品として用いられる。

【0002】

【従来の技術】通常、皮膚には吸水能や水分保持能があるので、柔軟性や弾力性が保たれているが、老化によってこれらの機能が低下すると皮膚の水溶性画分は失われ、皮膚表面が乾燥して、いわゆる「肌荒れ状態」になると考えられている。皮膚の主要な構成成分としては、コラーゲンやエラスチン等が知られており、これらの成分が皮膚の柔軟性や弾力性に寄与しているといわれている。また、老化によってこれらの機能が低下するのは、コラーゲンの代謝の低下や細胞間に存在する保湿能を有するヒアルロン酸の減少に起因するものと考えられている。したがって、これらの老化した皮膚を改善する目的でコラーゲンやヒアルロン酸等を配合した化粧品が市販されている。

【0003】一方、種々の乳酸菌が多糖類を生産するこ

とが知られている。また、ストレプトコッカス・ラクチス(*Streptococcus lactis*) もしくはラクトコッカス・ラクチス(*Lactococcus lactis*)、ストレプトコッカス・クレモリス(*Streptococcus cremoris*) もしくはラクトコッカス・クレモリス(*Lactococcus cremoris*)等の乳酸球菌の一部の菌種がリン酸化多糖類を生産することが報告されている(特開平3-229702号公報; Nakajima et al., Carbohydr. Res., vol.224, pp.245-253, 1992)。さらに、ラクトバチルス・サケ(*Lactobacillus sake*)等の乳酸桿菌の一部の菌種もリン酸化多糖類を生産することが報告されている(W094/12656号公報)。これらのリン酸化多糖類は、いずれも、グルコース、ガラクトース、ラムノース等の単糖が一定の配列を繰り返して糖鎖を形成し、その側鎖として単糖やグリセロール基を伴ったリン酸基が、直接あるいは別の単糖を介して結合した構造を有している点で中性多糖類とは異なる。また、そのリン酸基が有する三つのオキシ酸のうち、単糖とのエステル結合に二つが関与するが、残る一つは遊離状態であるため、他の物質との反応に関与することができるとい性質を有する。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】本発明者らは、リン酸化多糖類の利用性について、種々、検討を重ねてきたところ、このリン酸化多糖類に保湿作用及びコラーゲン産生能があることを見出した。そして、このリン酸化多糖類を皮膚老化予防及び改善剤の有効成分として配合することにより、化粧品等に皮膚老化予防及び改善効果を賦与することができると見出し、本発明を完成するに至った。したがって、本発明は、リン酸化多糖類を有効

成分とする皮膚老化予防及び改善剤を提供することを課題とする。

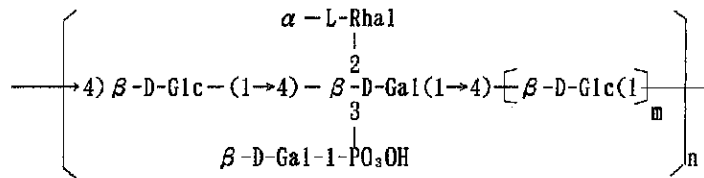
【0005】

【課題を解決するための手段】本発明は、リン酸化多糖類を有効成分とする皮膚老化予防及び改善剤である。そして、本発明の皮膚老化予防及び改善剤の有効成分であるリン酸化多糖類は、前記したように公知の化合物であ

り（特開平3-229702号公報；Nakajima et al., Carbohydr. Res., vol.224, pp.245-253, 1992；W094/12656号公報）、例えば、次のような構造式で示される化合物である。

【0006】

【化3】



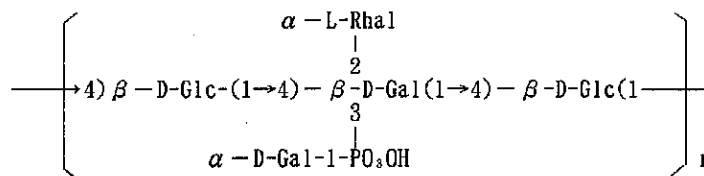
(I)

（但し、式中、Glc はグルコース残基を、Gal はガラクトース残基を、Rha はラムノース残基をそれぞれ示す。また、式中の大きな字で書かれた数字はそれぞれの結合部位を、mは0～3の整数を、nは繰り返しの単位で、

1,000～5,000 をそれぞれ示す。）

【0007】

【化4】



(II)

（但し、式中、Glc はグルコース残基を、Gal はガラクトース残基を、Rha はラムノース残基をそれぞれ示す。また、式中の大きな字で書かれた数字はそれぞれの結合部位を、nは繰り返しの単位で、1,000～5,000 をそれぞれ示す。）

【0008】そして、ストレプトコッカス・ラクチス(*Streptococcus lactis*) もしくはラクトコッカス・ラクチス(*Lactococcus lactis*)、ストレプトコッカス・クレモリス(*Streptococcus cremoris*) もしくはラクトコッカス・クレモリス(*Lactococcus cremoris*) 等の乳酸球菌やラクトバチルス・サケ(*Lactobacillus sake*)等の乳酸桿菌を培養し、その培養物からリン酸化多糖類を得ることができる。本発明の皮膚老化予防及び改善剤は、化粧水、クリーム等の化粧品の形態で用いられる。

【0009】

【発明の実施の形態】本発明においては、皮膚老化予防及び改善剤の有効成分として、前記したリン酸化多糖類を使用する。本発明の皮膚老化予防及び改善剤は、化粧品として一般的な形態である乳化系、可溶化系、スプレー、エアゾール等として、使用することが好ましい。そして、本発明の皮膚老化予防及び改善剤は、顔や手等の皮膚のように乾燥により肌荒れを起こす部位に、直接、適量を一日一回以上塗布すれば良い。

【0010】本発明の皮膚老化予防及び改善剤の有効成分として使用するリン酸化多糖類については、精製した

リン酸化多糖類のみではなく、リン酸化多糖類を産生する乳酸菌の培養物をそのまま使用しても構わないし、また、リン酸化多糖類を産生する乳酸菌の培養物にエタノール等の溶媒を添加することにより生成する沈澱を回収して使用しても構わない。なお、これらのリン酸化多糖類については、液状もしくは粉末状で、皮膚老化予防及び改善剤として容易に化粧品に配合することができる。

【0011】そして、化粧品等本発明の皮膚老化予防及び改善剤を配合して皮膚老化予防及び改善効果を発揮させるためには、少なくとも0.001重量%以上、好ましくは0.01～20重量%のリン酸化多糖類を化粧品等に配合する必要がある。また、本発明のリン酸化多糖類を有効成分とする皮膚老化予防及び改善剤については、従来よりコラーゲン産生促進作用やメラニン産生抑制作用を有することが知られているアスコルビン酸やその誘導体等の物質と併用して、化粧品等に配合しても構わない。なお、本発明の皮膚老化予防及び改善剤の有効成分として用いるリン酸化多糖類については、皮膚に対する毒性や刺激も無く、また、副作用も無いことを確認している。

【0012】次に、参考例、実施例及び試験例を示し、本発明を詳しく説明する。

【参考例1】特開平3-229702号公報に記載されている方法に従ってリン酸化多糖類を得た。すなわち、アクチナーゼE（科研製薬製）で完全に加水分解した脱脂乳を限外濾過膜処理し、そのリテンテート液を培地とした。こ

の培地を滅菌し、10L容のジャーファーマンターに無菌的に培地 9.8Lを分注した。そして、ストレプトコッカス・クレモリス(*Streptococcus cremoris*) SBT-0495 (FERM P-10053) の前培養液を5%接種した後、中和剤としてアンモニア水を使用し、pHを 5.5に保持して20℃、24時間培養した。培養終了後、培養液を遠心分離して上清を回収し、等量のエタノールを添加して沈澱を生成させた後、この沈澱を回収した。さらに、回収した沈澱を0.2N食塩水で溶解した後、エタノール沈澱を行うという操作を繰り返した。このSDS処理した沈澱物をSDSゲル電気泳動に供して、ゲル内に浸透しない部分を回収した。そして、回収した画分を透析した後、DEAE-イオン交換クロマトグラフィーにより吸着画分として精製多糖類を得、凍結乾燥してmが0~3、nが 1,000~5,000 の式(I)のリン酸化多糖類粉末約 700mgを得た。

【0013】

【実施例1】下記の表1に示した配合で各物質を混合して溶解した。

【0014】

【表1】

70%ソルビトール	3.0(g)
グリセリン	5.0
参考例1で得られたリン酸化多糖類	1.0
水	70.0

【0015】この溶解液に、アラントイン0.1g、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油誘導体0.5g、エタノール 20.0g及び香料少々を攪拌しながら添加して均一な溶液とし、皮膚老化予防及び改善効果を賦与した油性化粧水を製造した。

【0016】

【実施例2】下記の表2に示した配合で各物質を混合して溶解した。

【0017】

ミツロウ	10.0(g)
パラフィンワックス	6.0
ラノリン	3.0
イソプロピルミリスレート	6.0
スクワラン	8.0
流動パラフィン	25.0
参考例1で得られたリン酸化多糖類	1.0
ポリオキシエチレンソルビタンモノステアレート	1.8
ソルビタンモノステアレート	4.2
防腐剤	少々

【0024】この溶解液に、プロピレングリコール2.0g、ホウ砂0.7g、尿素5.0g及び水 28.0gを攪拌しながら

【表2】

エチレングリコール	2.5(g)
プロピレングリコール	5.0
シリコーン	0.0001
参考例1で得られたリン酸化多糖類	1.0
水	70.0

【0018】この溶解液に、尿素1.0g、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレート1.2g、エタノール 20.0g、 ϵ -アミノカプロン酸0.1g及び香料少々を攪拌しながら添加して均一な溶液とし、皮膚老化予防及び改善効果を賦与した乾性化粧水を製造した。

【0019】

【実施例3】下記の表3に示した配合で各物質を混合して75℃で加熱溶解した。

【0020】

【表3】

グリセリン	2.0(g)
ステアリン酸	20.0
ミリスチン酸	10.0
ラウリン酸	5.0
ポリオキシエチレンラウリルエーテル	1.0
参考例1で得られたリン酸化多糖類	1.0
香料	少々
防腐剤	少々

【0021】この溶解液に、水酸化カリウム5.5g及び水 56.0gを攪拌しながら添加した後、冷却し、皮膚老化予防及び改善効果を賦与した洗顔クリームを製造した。

【0022】

【実施例4】下記の表4に示した配合で各物質を混合して75℃で加熱溶解した。

【0023】

【表4】

ミツロウ	10.0(g)
パラフィンワックス	6.0
ラノリン	3.0
イソプロピルミリスレート	6.0
スクワラン	8.0
流動パラフィン	25.0
参考例1で得られたリン酸化多糖類	1.0
ポリオキシエチレンソルビタンモノステアレート	1.8
ソルビタンモノステアレート	4.2
防腐剤	少々

添加した後、冷却し、香料少々を添加して、皮膚老化予防及び改善効果を賦与した油性クリームを製造した。

【0025】

【比較例1】比較例として、リン酸化多糖類に代えてヒアルロン酸ナトリウムを配合した以外は実施例4と同様の配合の油性クリームを製造した。

【0026】

【試験例1】20～50歳の女性パネル各20名を対象として、実施例4の油性クリーム又は比較例1の油性クリームを一日に朝晩2回の頻度で1ヵ月間使用してもらい、皮膚の保湿性、柔軟性及び弾力性の変化を調べた。その結果について、皮膚の保湿性の変化を表5に、皮膚の柔軟性の変化を表6に、皮膚の弾力性の変化を表7にそれぞれ示す。

【0027】なお、皮膚の保湿性については、各油性クリームを使用した後、皮膚から不感知的に失われて行く

水分量を示す経皮水分損失(Transepidermal Water Loss: TWL) 値をエバポリメーターで測定し、以下の判定基準により評価した。

非常に効果あり：比較例1の値と比べTWL値が30%以上減少

やや効果あり：比較例1の値と比べTWL値が10%以上30%未満減少

効果なし：比較例1の値と比べTWL値が10%未満減少又は10%未満増大

悪化：比較例1の値と比べTWL値が10%以上増大

また、皮膚の柔軟性の変化及び皮膚の弾力性の変化については、パネルの官能評価により表した。

【0028】

【表5】

(非常に効果あり)	(やや効果あり)	(効果なし)	(悪化)
4/20	12/20	4/20	0/20

【0029】

【表6】

	(非常に改善)	(やや改善)	(変化なし)	(悪化した)
実施例	11/20	9/20	0/20	0/20
比較例	9/20	11/20	0/20	0/20

【0030】

【表7】

	(非常に改善)	(やや改善)	(変化なし)	(悪化した)
実施例	9/20	10/20	1/20	0/20
比較例	7/20	12/20	1/20	0/20

【0031】本試験の結果によると、リン酸化多糖類は、優れた保湿性を有し、皮膚の柔軟性及び弾力性を改善する効果を有することが判る。

【0032】

【試験例2】本試験では、参考例1で得られたリン酸化多糖類のコラーゲン産生促進活性を調べた。なお、コラーゲン産生促進活性については、コラーゲンが細胞内でプロコラーゲンとして生合成され、このプロコラーゲンが細胞外に分泌されてコラーゲン繊維として重合する時にエンドペプチダーゼの作用により遊離するプロコラーゲンのC末端プロペプチド(PIP)をELISA法で測定することにより求めた。また、本試験では、細胞として、コラーゲン産生能が認められているヒト正常線維芽細胞(IMR-90)を使用した。

【0033】すなわち、IMR-90(ATCC CCL-186)細胞を6ウェルプレートでコンフルエントに到るまで培養した後、PBSで洗浄した。次いで、終濃度1%となるよう

に10%ウシ胎児血清(FCS)を添加したダルベッコ変法イーグル培地(DMEM)で調製したリン酸化多糖類溶液及びこのリン酸化多糖類溶液を原液としDMEMで二倍段階希釈したリン酸化多糖類溶液を各ウェルに加えて、さらに3日間培養した後、上清中に含まれるPIP量をELISAキット(宝酒造製)で測定した。その結果を図1に示す。

【0034】本試験の結果によると、リン酸化多糖類は、コラーゲンの産生を濃度依存的に促進することが判る。すなわち、リン酸化多糖類を0.1%、0.5%、あるいは、1%添加することにより、コラーゲン産生促進活性は、リン酸化多糖類無添加の場合の1.1倍、1.4倍、あるいは1.7倍というように、それぞれ高まることが判る。

【0035】

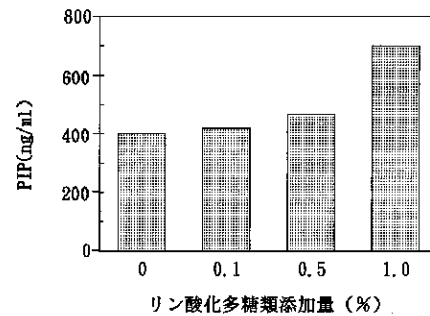
【発明の効果】乳酸菌が生産する安全性が極めて高いリン酸化多糖類を有効成分とする皮膚老化予防及び改善剤

を化粧品等に配合することにより、皮膚機能を亢進させる効果を賦与することができ、皮膚の硬化、張り、皺等を予防及び改善することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】試験例2におけるリン酸化多糖類のコラーゲン産生促進効果を示す。

【図1】



フロントページの続き

(72)発明者 大田 賛行
北海道札幌市厚別区厚別中央5条8丁目9
-10-306

(72)発明者 クラース ドゥースブルグ
オランダ国, 9602 ダブリュズィー, ホ
ーゲザンド, ファン ホーヘンドルプスト
ラート 2

(72)発明者 ヤン シッケマ
オランダ国, 9483 ピーエー ゼイグス,
ホーフドベッヘ 1 ビー

(72)発明者 岩崎 泰介
オランダ国, 9602 ジーケー ホーゲザン
ド, プリンセスラーン 4